

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-287493

(43)Date of publication of application : 10.10.2003

(51)Int.Cl.

G01N 21/27  
G01N 21/03

(21)Application number : 2002-088822

(71)Applicant : FUJI PHOTO FILM CO LTD

(22)Date of filing : 27.03.2002

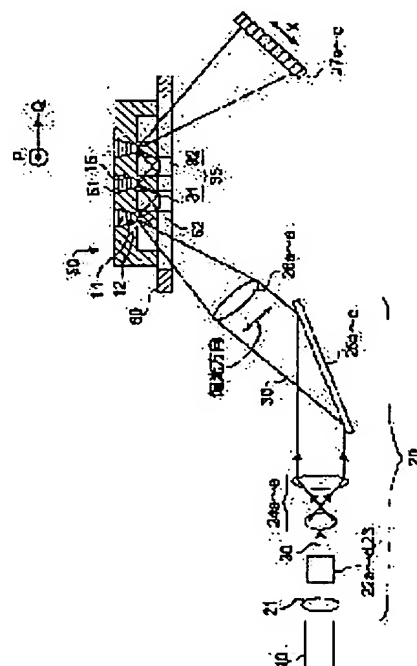
(72)Inventor : KIMURA TOSHIHITO

## (54) MEASURING APPARATUS

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To improve the throughput of screening in a measuring apparatus utilizing a total reflected light.

**SOLUTION:** The measuring apparatus comprises a reflection optical system 35 having a plurality of measuring units in a series relation with an optical beam 30. An optical beam 30 reflected on an interface of the wells 51 of a row Q1 by branching and introducing in parallel the beam 30 emitted from a light source 10 by an incident means 20 to an interface of a plurality of wells 51 aligned in a direction P of a row Q1 of a measuring plate 50 having the measuring units each having the well 51, a metal film 12 formed at a bottom of the wells and a dielectric block 52 projected under the wells arranged in a two-dimensional manner is reflected by a concave mirror 31 of the reflection optical system 35, introduced to the interface of the well 51 of a row Q2, and further the optical beam 30 reflected from the interface is reflected from the concave mirror 32, introduced to the interface of the wells 51 of a row Q3, and the optical beam reflected from the interface is detected by photodetecting means 27a to 73e.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the

examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-287493

(P2003-287493A)

(43) 公開日 平成15年10月10日 (2003.10.10)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

データベース (参考)

G 0 1 N 21/27  
21/03G 0 1 N 21/27  
21/03C 2 G 0 5 7  
Z 2 G 0 5 9

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2002-88822 (P2002-88822)

(22) 出願日 平成14年3月27日 (2002.3.27)

(71) 出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社

神奈川県南足柄市中沼210番地

(72) 発明者 木村 俊仁

神奈川県足柄上郡関成町富倉798番地 富

士写真フイルム株式会社内

(74) 代理人 100073184

弁理士 柳田 征史 (外1名)

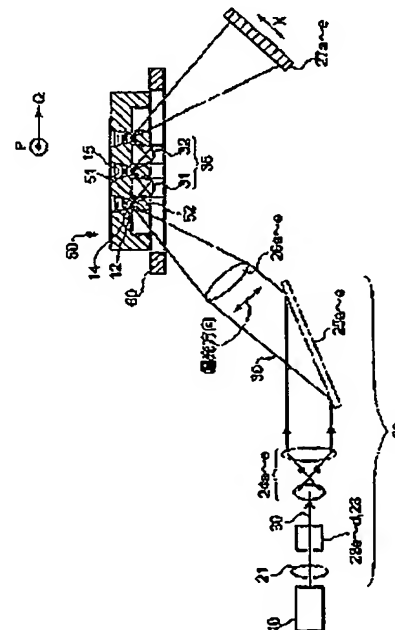
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 測定装置

(57) 【要約】

【課題】 全反射光を利用した測定装置において、スクリーニングのスループットを向上させる。

【解決手段】 複数の測定ユニットを光ビーム30に対して直列な関係とする反射光学系35を備える。ウェル51と該ウェルの底面に形成された金属膜12および該ウェルの下方に突出した誘電体ブロック部52からなる測定ユニットが2次元状に複数配列されてなる測定プレート50のQ1列のP方向に並んだ複数のウェル51の界面に、光源10から出射された光ビーム30入射手段20により分岐し並列的に入射させ、該Q1列のウェル51の界面で反射した光ビーム30を反射光学系35の凹面鏡31により反射してQ2列のウェル51の界面に入射させ、さらに、該界面で反射した光ビーム30を凹面鏡32により反射してQ3列のウェル51の界面に入射させ、該界面で反射した光ビームを光検出手段27a～eにより検出する。



(2)

特開2003-287493

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 光ビームを発生させる光源と、

前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの上面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に試料を保持する試料保持機構を備えてなる複数の測定ユニットと、

前記光ビームを、前記複数の測定ユニットの第1の測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、

前記界面で全反射した光ビームを反射して、第2から第(2+n)の測定ユニットの界面に対して、順次、該界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる反射光学系と、

前記第(2+n)の測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とする測定装置。

【請求項2】 前記反射光学系が凹面とミラーからなることを特徴とする請求項1記載の測定装置。

【請求項3】 前記反射光学系がミラーと凸レンズからなることを特徴とする請求項1記載の測定装置。

【請求項4】 前記複数の測定ユニットが一次元もしくは二次元に配列され一体的に形成されていることを特徴とする請求項1から3いずれか1項記載の測定装置。

【請求項5】 前記複数の測定ユニットの前記薄膜層の厚みがそれぞれ異なることを特徴とする請求項1から4いずれか1項記載の測定装置。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、表面プラズモンの発生を利用して物質の特性を分析する表面プラズモン測定装置等の全反射光によるエバネッセント波の発生を利用した測定装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】金属中においては、自由電子が集団的に振動して、プラズマ波と呼ばれる粗密波が生じる。そして、金属表面に生じるこの粗密波を量子化したものは、表面プラズモンと呼ばれている。

【0003】従来より、この表面プラズモンが光波によって励起される現象を利用して、被測定物質の特性を分析する表面プラズモン測定装置が種々提案されている。そして、それらの中で特に良く知られているものとして、Kretschmann配置と称される系を用いるものが挙げられる(例えば特開平6-167443号参照)。

【0004】上記の系を用いる表面プラズモン測定装置は基本的に、例えばプリズム状に形成された誘電体ブロックと、この誘電体ブロックの一面に形成されて液体試料などの被測定物質に接触させられる金属膜と、光ビームを発生させる光源と、上記光ビームを誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと金属膜との界面で全反射

2

条件が得られるように種々の角度で入射させる光学系と、上記界面で全反射した光ビームの強度を測定して表面プラズモン共鳴の状態、つまり全反射減衰の状態を検出する光検出手段とを備えてなるものである。

【0005】なお上述のように種々の入射角を得るためには、比較的細い光ビームを入射角を変化させて上記界面に入射させてもよいし、あるいは光ビームに種々の角度で入射する成分が含まれるように、比較的太い光ビームを上記界面に収束光状態であるいは発散光状態で入射させてもよい。前者の場合は、入射した光ビームの入射角の変化に従って、反射角が変化する光ビームを、上記反射角の変化に同期して移動する小さな光検出器によって検出したり、反射角の変化方向に沿って延びるエリアセンサによって検出することができる。一方後者の場合は、種々の反射角で反射した各光ビームを全て受光できる方向に延びるエリアセンサによって検出することができる。

【0006】上記構成の表面プラズモン測定装置において、光ビームを金属膜に対して全反射角以上の特定入射角で入射させると、該金属膜に接している被測定物質中に電界分布をもつエバネッセント波が生じ、このエバネッセント波によって金属膜と被測定物質との界面に表面プラズモンが励起される。エバネッセント光の波数ベクトルが表面プラズモンの波数と等しくて波数整合が成立しているとき、両者は共鳴状態となり、光のエネルギーが表面プラズモンに移行するので、誘電体ブロックと金属膜との界面で全反射した光の強度が鋭く低下する。この光強度の低下は、一般に上記光検出手段により暗線として検出される。なお上記の共鳴は、入射ビームがp偏光のときにだけ生じる。したがって、光ビームがp偏光で入射するように予め設定しておく必要がある。

【0007】この全反射減衰(ATR)が生じる入射角、すなわち全反射減衰角 $\theta_{sp}$ より表面プラズモンの波数が分かると、被測定物質の誘電率が求められる。すなわち表面プラズモンの波数を $k_{sp}$ 、表面プラズモンの角周波数を $\omega$ 、 $c$ を真空中の光速、 $\epsilon_s$ と $\epsilon_m$ をそれぞれ金属、被測定物質の誘電率とすると、以下の関係がある。

【0008】

【数1】

$$k_{sp}(\omega) = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m(\omega)\epsilon_s}{\epsilon_m(\omega) + \epsilon_s}}$$

すなわち、上記反射光強度が低下する入射角である全反射減衰角 $\theta_{sp}$ を知ることにより、被測定物質の誘電率 $\epsilon_s$ 、つまり屈折率に関連する特性を求めることができる。

【0009】また、全反射減衰(ATR)を利用する類似の測定装置として、例えば「分光研究」第47巻第

(3)

特開2003-287493

3

1号(1998)の第21～23頁および第26～27頁に記載がある漏洩モード測定装置も知られている。この漏洩モード測定装置は基本的に、例えばプリズム状に形成された誘電体ブロックと、この誘電体ブロックの一面に形成されたクラッド層と、このクラッド層の上に形成されて、試料液に接触させられる光導波層と、光ビームを発生させる光源と、上記光ビームを上記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックとクラッド層との界面で全反射条件が得られるように種々の角度で入射させる光学系と、上記界面で全反射した光ビームの強度を測定して導波モードの励起状態、つまり全反射減衰状態を検出する光検出手段とを備えてなるものである。

【0010】上記構成の漏洩モード測定装置において、光ビームを誘電体ブロックを通してクラッド層に対して全反射角以上の入射角で入射させると、このクラッド層を通過した後に光導波層においては、ある特定の波数を有する特定入射角の光のみが導波モードで伝搬するようになる。こうして導波モードが励起されると、入射光のほとんどが光導波層に取り込まれるので、上記界面で全反射する光の強度が鋭く低下する全反射減衰が生じる。そして導波光の波数は光導波層の上の被測定物質の屈折率に依存するので、全反射減衰が生じる上記特定入射角を知ることによって、被測定物質の屈折率や、それに関連する被測定物質の特性を分析することができる。

【0011】なお、表面プラズモン共鳴測定装置もしくは漏洩モード測定装置等の全反射を利用した測定装置としては、光を界面に全反射条件が得られる入射角で入射させ、その光によるエバネッセント波の発生により、界面で全反射した光の状態の変化を測定することにより被測定物質の特性分析等を行うに際して、前述の全反射減衰を生じる特定入射角の測定をする装置のほか、複数の波長の光ビームを界面に入射させ、角波長毎の全反射減衰の程度を検出する装置、あるいは、光ビームを界面に入射させるとともに、この光ビームの一部を、界面入射前に分割し、この分割した光ビームを界面で反射した光ビームと干渉させて、該干渉の状態を測定する装置等種々のタイプがある。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】ところで、従来提供されている上記表面プラズモン共鳴測定装置や漏洩モードセンサー等の全反射光を利用した測定装置においては、多数の試料について測定する場合、測定に長時間を要するという問題が認められる。特に、例えば抗原抗体反応や化学反応等に伴う変化を検出するために1つの試料について時間間隔をおいて何回か測定を行なう場合には、その1つの試料に関する測定が終了しなければ新しい試料の測定に入らず、試料全体の測定に非常に長い時間を要してしまう。

【0013】そこで、多数の試料についての測定を短時間で済ませることができるようにするため、複数の光ビ

4

ームを並列的に並べられた複数の誘電体ブロックにそれぞれ入射させ、各誘電体ブロックの界面で反射された互いに平行な光路を伝播するそれぞれの反射光ビームを、各誘電体ブロックそれぞれに対応させて、並列的に並べられた複数の受光手段で個別に受光して全反射光の状態を検出する測定装置も検討されている。このような測定装置であれば、同時に複数の検体について測定を行うことができるため、スループットの向上を図ることができる。

【0014】しかしながら、1回の測定でN検体同時に測定可能な測定装置としても、1回の測定にかかる時間が10分とし、例えば1万検体の測定に要する時間は $10000 \times 10 / N$  (分)である。光検出手段の数を増加させることにより、同時に測定する検体数を増やすことはできるが装置の肥大化を伴うため限界がある。すなわち、従来のN検体同時に測定可能な測定装置とは、N個の光検出手段を備えたものであり、同時に測定可能な検体数を光検出手段の数より多くすることができないため、スクリーニングに要する時間の短縮化には限界がある。

【0015】一方、スクリーニングにおける検体のヒット数は0.01～0.1%程度であり、同時に測定可能なN検体中に1検体もヒットがない場合もある。したがって、98穴のマルチタイタプレート様の測定用プレートについて、1枚の測定用プレートの98検体中にヒットが1検体もない場合もある。したがって、このような測定用プレートに時間をかけて高精度の測定をする必要はない。

【0016】本発明は上記の事情に鑑みて、より高速に簡易なスクリーニングを行うことができる測定装置を提供することを目的とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明の測定装置は、光ビームを発生させる光源と、前記光ビームに対して透明な誘電体ブロック、この誘電体ブロックの上面に形成された薄膜層、およびこの薄膜層の表面上に試料を保持する試料保持機構を備えてなる複数の測定ユニットと、前記光ビームを、前記複数の測定ユニットの第1の測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる入射光学系と、前記界面で全反射した光ビームを反射して、第2から第 $(2+n)$ の測定ユニットの前記誘電体ブロックに対して、順次、該誘電体ブロックと前記薄膜層との界面で全反射条件が得られる入射角で入射させる反射光学系と、前記第 $(2+n)$ の測定ユニットの前記界面で全反射した光ビームの強度を測定する光検出手段とを備えてなることを特徴とするものである。

【0018】すなわち、本発明の測定装置は、1つの光検出手段において、光ビームに対して直列的に並べられ

(4)

特開2003-287493

5

た複数の測定ユニットにおける全反射光の状態が反映された光ビームを検出することを特徴とするものである。

【0019】なお、光検出手段を複数備え、各光検出手段毎に複数の測定ユニットにおける全反射光の状態が反映された光ビームを検出するようにしてもよい。

【0020】ここで、 $n$ は自然数(0, 1, 2, ...)である。

【0021】上記測定装置は、上記薄膜層を、金属膜からなるものとし、前述の表面プラズモン共振による効果を利用して測定を行なうように構成されたものとしてもよい。

【0022】また、上記測定装置は、上記薄膜層を、誘電体ブロックの前記上面に形成されたクラッド層と該クラッド層上に形成された光導波路からなるものとし、該光導波路における導波モードの励起による効果を利用して測定を行なうように構成されたものとしてもよい。

【0023】またさらに、本発明による測定装置においては、光検出手段により前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して試料の分析を行うには種々の方法があり、例えば、光ビームを前記界面で全反射条件が得られる種々の入射角で入射させ、各入射角に対応した位置毎に前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して、全反射減衰により発生した暗線の位置(角度)を検出することにより試料分析を行ってもよいし、D.V.Noort, K. Johansen, C.-F.Mandemius, Porous Gold in Surface Plasmon Resonance Measurement, EUROSENSORS XIII, 1999, pp.585-588に記載されているように、複数の波長の光ビームを前記界面で全反射条件が得られる入射角で入射させ、各波長毎に前記界面で全反射した光ビームの強度を測定して、各波長毎の全反射減衰の程度を検出することにより試料分析を行ってもよい。

【0024】また、P.I.Nikitin, A.N.Grigorenko, A.A.Beloglazov, M.V.Valerko, A.I.Savchuk, G.A.Savchuk, Surface Plasmon Resonance Interferometry for Micro-Array Biosensing, EUROSENSORS XIII, 1999, pp.235-238に記載されているように、光ビームを前記界面で全反射条件が得られる入射角で入射させるとともに、この光ビームの一部を、この光ビームが前記界面に入射する前に分割し、この分割した光ビームを、前記界面で全反射した光ビームと干渉させて、その干渉後の光ビームの強度を測定することにより試料分析を行ってもよい。

【0025】光ビームを前記界面で全反射条件が得られる種々の入射角で入射させ、全反射減衰により発生した暗線の位置(角度)を検出する測定装置の場合、前記反射光学系は、反射機能と光収束機能を備えた1つもしくは複数の光学素子により構成することができる。具体的にはそれぞれ光収束機能、反射機能を有する、凹面とミラーを備えてなるものであってもよいし、反射素子としてミラーを、光収束素子として凸レンズを備えてなるものであってもよい。光収束機能を有する凹面と反射機能

6

を有するミラーを備えてなるものとしては、両機能を同時に有する凹面ミラーを備えた構成であってもよいし、また、反射機能を有する反射素子としてミラーを備え、測定ユニットの界面を凹面とすることにより該界面に光収束機能を備えてなる構成としてもよい。なお、反射光学系は、測定ユニットの一部に設けてもよいし、測定ユニットとは別個に設けてもよい。

【0026】また、光ビームを一定の入射角で入射させ、光ビームの波長もしくは位相を利用した測定装置の場合、前記反射光学系は、反射素子のみで構成することができ、光収束機能は必ずしも必要でない。この場合も、反射光学系は、測定ユニットの一部に設けてもよいし、測定ユニットとは別個に設けてもよい。

【0027】また、誘電体ブロックは、前記光ビームの入射面および出射面と、前記薄膜層が形成される面とを全て有する1つのブロックとして形成されたものであってもよいし、前記光ビームの入射面および出射面を有する部分と、前記薄膜層が形成される面を有する部分の2つが、屈折率マッチング手段を介して接合されてなるものであってもよい。

【0028】複数の測定ユニットは、1次元配列、2次元配列、3次元配列のいかなる配列であってもよく、反射光学系を該配列に応じた構成とすればよい。

【0029】複数の測定ユニットは、1個ずつ個別に形成されたものであってもよいし、1次元もしくは2次元に配列され一体的に形成されていてもよい。また、測定ユニットが、薄膜層の表面上に試料を連続的に供給すると共に、この供給された試料を連続的に排出する試料給排手段を備えていてもよい。

【0030】光検出手段により反射光の強度測定を行い、反射光の状態を確認する。時間に伴い反射光の状態の変化により、測定対象となった複数の測定ユニット中におけるヒットの有無を得る。測定対象となった複数の測定ユニットのいずれかがヒットした可能性が確認された場合、いずれの測定ユニットの検体がヒットしたかについては、個々の測定ユニットの界面へ光ビームを入射させ該界面からの反射光を測定する測定精度の高い従来の測定装置を用いて測定を行うことにより特定すればよい。なお、本発明の測定装置が、従来の測定装置の機能を有するものであってもよい。

【0031】なお、特に、本発明の測定装置が、全反射減衰が生じる入射角度に基づいた測定を行う測定装置である場合には、前記複数の測定ユニットの薄膜層の厚みをそれぞれ異なるものとする、誘電体ブロックの屈折率を異なるものとする、各測定ユニットに分注するバッファの屈折率を異なるものとする、あるいは、前記反射光学系の、測定ユニット数に応じて配される複数の反射素子の角度をそれぞれ異なるものとする等により、複数の測定ユニットによって生じる暗線が分離して現れるようにしてもよい。

(5)

特開2003-287493

7

8

【0032】

【発明の効果】本発明の測定装置は、反射光学系を備えたことにより、複数の測定ユニットを1本の光ビームに対して直列的に配置し、該複数の測定ユニットの界面で入射および反射を繰り返してきた光ビームの強度を光検出手段により測定するので、1つの光検出手段で複数の測定ユニットにおける全反射光の状態を検出することができる。したがって、従来の測定装置と比較してスループットを向上させることができる。

【0033】例えば、N個の光検出手段を備えた測定装置の場合、従来はN個の測定ユニットのみ同時に測定するものであったが、本発明のように、1本の光ビームに対して複数の測定ユニットを直列に配置することにより、1つの光検出手段につきM個の測定ユニットを経た光ビームを受光するようにしたとすると、同時にN×M個の被検体についての測定を行うことができ、従来のM倍の速度で被検体の測定を行うことができる。これは例えば、数万個単位の被検体について特定のセンシング物質との結合の有無を測定するスクリーニングのような場合には、時間短縮の効果が顕著である。

【0034】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を図面を参照して説明する。本発明の実施の形態の全反射光を利用したセンサーは、創薬研究分野等において、所望のセンシング物質に結合する特定物質を見いだすランダムスクリーニングを行うための装置であり、高速簡易スクリーニングに用いられるものであり、複数の誘電体ブロックに光ビームを並列的に入射させ、さらに直列的に並べられた複数の測定ユニットへの入射光を経た光ビームの強度を光検出手段により測定して、複数の測定ユニットの全反射減衰の状態を同時に検出する表面プラズモン共鳴を利用した表面プラズモンセンサーである。図1は本発明の第1の実施の形態の表面プラズモンセンサーの概略構成を示す平面図であり、図2はこの表面プラズモンセンサーの側面形状を示すものである。

【0035】本表面プラズモンセンサー1においては、試料15を保持する複数のウェル（液溜め）51を有する測定用プレート50が備えられており、複数の試料15についての測定を短時間で効率よく行うことができる。該測定用プレート50は、例えば透明樹脂等からなり、図3に拡大して示す通り、上面に円錐の一部を切り取った形状の複数のウェル51が設けられ、ウェル51の底面上に、金属膜12およびセンシング物質14がこの順に固定されている。また上記ウェル51の各々の下方に突出した誘電体ブロック部52が形成され、この誘電体ブロック部52と上記金属膜12との界面に測定用光ビーム30が入射されるようになっている。すなわち、1つのウェル51、ウェル底面の金属膜12および誘電体ブロック部52により1つの測定ユニットが構成されており、測定用プレート50は、複数の測定ユニットが2次元的に配列されてなる集合体とみな

すことができる。上記ウェル51は、図2に示されるように横方向（矢印P方向）、縦方向（矢印Q方向）にそれぞれ複数並べて形成されており、この測定用プレート50は、測定ユニット支持台60上にセットされた状態で測定に供される。

【0036】本表面プラズモンセンサーは光ビーム30を出射するレーザ光源10と、該光源10から出射された光ビーム30をプレート50において矢印Q方向1列目（以後、単にQ1列という）の矢印P方向に並んだ複数（本例では5個）のウェル51の底面に、並列的に入射させる入射光学系20と、該Q1列のウェル51の界面で反射した光ビーム30を、それぞれ同一行の矢印Q方向2列目（以後、Q2列という）のウェル51に入射させ、さらに該Q2列のウェル51の界面で反射した光ビーム30を、矢印Q方向3列目（以後、Q3列という）のウェル51に入射させる反射光学系35と、Q3列のウェル51の界面で反射した光ビーム30をそれぞれ受光する矢印P方向のウェル数と同数の5個の光検出手段27a～eを備えてなる。

【0037】入射光学系20は、レーザ光源10から発散光状態で発せられた光ビーム30を平行光とするコリメータレンズ21、光ビーム30を分岐するハーフミラー22a～dおよびミラー23、分岐された光ビーム30を図2で示される面内のみで径を拡大するシリンドリカルビームエキスパンダ24a～e、光ビーム30を反射するミラー25a～e、該ミラー25a～eで反射された光ビーム30を、図2に示される面内のみで集光するシリンドリカルレンズ26a～eとを備えてなる。

【0038】反射光学系35は、測定用プレート50を支持する測定ユニット支持台60の一部に固設された凹面鏡31、32からなるものであり、図3に示すように、Q1列のウェル51の界面で反射した光ビーム30を、凹面鏡31により反射し、Q2列のウェル51の界面でQ1列のウェル51の界面での入射と略同一の入射角度範囲で入射するように収束させ、さらに、Q2列のウェル51の界面で反射した光ビーム30を、凹面鏡32により反射して同様にQ3列のウェル51の界面に入射させるものである。この反射光学系35により、Q方向に並んだ3つのウェル51は、光ビーム30に対して直列な関係となっている。

【0039】光検出手段27a～eの各々は、多数の受光素子が1列に配されてなるラインセンサーから構成されており、受光素子の並び方向が図2中の矢印X方向となるように配されている。

【0040】1つのレーザ光源20から発散光状態で発せられた光ビーム30はコリメータレンズ21で平行光とされた後、ハーフミラー22a～dとミラー23とによって5本に分岐され、分岐された5本の光ビーム30が各々ウェル51の底面、つまり誘電体ブロック部52と金属膜12との界面に入射する。

【0041】このとき、分岐された各光ビーム30は、それぞれシリンドリカルビームエキスパンダ24a～eによ

(6)

特開2003-287493

9

10

り図2に示される面内のみで径が拡大され、それぞれミラー25a～eで反射して進行方向を変えた後、それぞれシリンドリカルレンズ26a～eにより図2に示される面内のみで集光される。それにより各光ビーム30は、それぞれ誘電体ブロック部52と金属膜12との界面に対して、種々の入射角成分を持った状態で入射する。なおレーザ光源20は、直線偏光である光ビーム30がp偏光状態で上記界面に入射するようになる向きに配設されている。その他、光ビーム30を界面に対してp偏光で入射させるには波長板で光ビーム30の偏光の向きを制御するようにしてもよい。

【0042】光ビーム30は、上述のように集光されるので、界面に対して種々の入射角 $\theta$ で入射する成分を含むことになる。なお、この入射角 $\theta$ は、全反射角以上の角度とされる。そのため、界面で全反射した反射光ビーム30は、種々の反射角で全反射された成分が含まれることになる。なお、上記入射光学系20は、光ビーム30を界面上に点状に集光させずにデフォーカス状態で入射させるように構成してもよい。そのようにすれば、界面上のより広い領域において光ビーム30が全反射されるので、全反射減衰の状態で検出誤差が平均化されて全反射解消角の測定精度を高めることができる。

【0043】以下、上記構成の表面プラズモンセンサーによる試料分析について説明する。

【0044】図2に示す通り、レーザ光源10から射出された光ビーム30は、入射光学系20を通して、Q1列のウェル51の誘電体ブロック52と金属膜12との界面上に収束される。界面上に収束され、この界面で全反射された反射光ビーム30は、次のQ2列のウェル51の界面に入射され、該界面で反射され、さらに次のQ3列のウェル51の界面に入射され反射される。Q3列のウェル51の界面で反射された反射光ビームが光検出手段27a～eによって検出される。光検出手段27a～eは、複数の受光素子であるフォトダイオードが1列に並設されてなるフォトダイオードアレイである。したがって、上記界面において種々の反射角で全反射された反射光ビーム30の各成分を、それぞれ異なるフォトダイオードが受光することになる。そして、受光手段27a～eは、各フォトダイオードによって検出された上記反射光ビーム30の強度分布を示す信号を出力する。

【0045】界面に特定入射角 $\theta_p$ で入射した上記光ビーム30の成分は、金属膜12と液体試料15との界面に表面プラズモンを励起させるので、この光については反射光強度が鋭く低下する。つまり上記特定入射角 $\theta_p$ が全反射解消角であり、この角度 $\theta_p$ において反射光強度は極小値を示す。この反射光強度が低下する領域は、反射光ビーム30中の暗線として観察される。ウェル底面の金属膜12に接している物質の誘電率つまりは屈折率が変化すると、それに応じて光強度極小領域（暗線位置）が左右方向に移動する。

【0046】本実施形態の場合、光ビーム30は、3つのウェル51の界面での入射を繰り返しているため、各界面においてそれぞれ反射光に暗線が生じるはずであるが、ここでは光ビームを各界面に同一入射角度範囲で入射させているため、試料滴下前には暗線位置は略一致しており、光ビーム30の界面への入射角 $\theta$ と光検出手段で受光した光ビームの光強度 $I$ との関係は、図4(a)に示すように、 $\theta$ のみに極小値を有するプロファイルを示す。試料液を滴下後、光ビームのプロファイルをモニタし、暗線の変化を観察する。所定時間経過後、例えば図4(b)に示すように、極小値が $\theta_1$ と $\theta_2$ に分岐して現れた場合、すなわち一致していた暗線位置にずれが生じたことを意味し、3つのウェルのうちいずれかのウェル中の検体がセンシング物質14と結合した（ヒットした）と判断される。一方、暗線が分岐することなく特異な変化をするものがないと判断される。したがって、いずれもヒットしていないと判断されたウェルのグループについては従来の3倍の速度のスループットで処理を行うことができる。結合が生じたもの、すなわちヒットがあったウェルのグループについては各ウェル毎に従来の装置を用いて暗線位置の変化測定を行うことにより、いずれのウェルにおいてヒットがあったかを特定する。前述の通り、創薬研究の分野におけるスクリーニングは、ヒット数が0.01%～0.1%であることから、本実施形態のように、複数のウェルを光ビームに対して直列配置し同時に測定することにより、精度よく測定すべきウェル数を大幅に減少させることができるため、結果としてスループットを向上し高速化を図ることができる。

【0047】なお、上述の表面プラズモンセンサーにおいて、測定ユニットの一部の構成を変更することにより漏洩モードセンサーとすることができる。以下、図面を用いて本発明の測定装置を漏洩モードセンサーとした場合の実施形態について説明する。

【0048】図5は、漏洩モードセンサーの測定ユニットの一例を示す図である。なおこの図5において、図3中の要素と同等の要素には同番号を付してあり、それらについての説明は特に必要の無い限り省略する。

【0049】漏洩モードセンサーは測定ユニットとして、上記と同様の複数のウェル51を備えた測定用プレート50'を備えている。ただし、図5に示すようにウェル51の底面に金属膜12にかえて、クラッド層40が形成され、さらにその上には光導波層41が形成されてなる。それ以外の構成は上述の表面プラズモンセンサーと同一である。

【0050】測定用プレート50'は、例えば合成樹脂やBK7等の光学ガラスを用いて形成されている。一方クラッド層40は、該プレート50'よりも低屈折率の誘電体や、金等の金属を用いて薄膜状に形成されている。また光導波層41は、クラッド層40よりも高屈折率の誘電体、

(7)

特開2003-287493

11

例えばPMMAを用いてこれも薄膜状に形成されている。クラッド層46の膜厚は、例えば金薄膜から形成する場合で36.5nm、光導波層41の膜厚は、例えばPMMAから形成する場合で700nm程度とされる。

【0051】上記構成の漏洩モードセンサーにおいて、レーザ光源16から射出された光ビーム30を誘電体ブロック部52を通してクラッド層46に対して全反射角以上の入射角で入射させると、該光ビーム30の多くの成分が誘電体ブロック部52とクラッド層46との界面で全反射するが、クラッド層46を透過して光導波層41に特定入射角で入射した特定波長の光は、該光導波層41を導波モードで伝搬されるようになる。こうして導波モードが励起されると、特定入射角で入射した入射光のほとんどが光導波層41に取り込まれるので、上記界面に特定入射角で入射し、全反射された光の強度が鋭く低下する全反射減衰が生じる。光導波層41における導波光の波数は、該光導波層41上の液体試料15の屈折率に依存するので、全反射減衰が生じる上記特定入射角である全反射解消角の変動を知ることによって、特定物質の有無を得ることができる。

【0052】漏洩モードセンサーにおいても測定ユニット支持台60に反射光学系35を備えており、複数のウェル51の界面に順次入射させ、該界面で反射した光ビーム30の強度を測定することにより、直列に配置した複数のウェル51におけるヒットの有無を得ることができるため、スループットの向上を図ることができる。

【0053】上記実施形態においては、反射光学系が測定ユニット支持台に設けられた形態としたが、図6に測定ユニットおよび反射光学系の断面図を示すように、測定ユニットの集合体である測定用プレートと反射光学系が一体的に構成されていてもよい。図6に示す測定用プレート70は、図1で示した測定用プレート50と同様に矢印P方向およびQ方向に2次的に配列された複数のウェル71を備えている。一方、個々のウェル毎に誘電体ブロック部が突出するように形成されているのではなく、矢印Q方向に並んだウェルの下部に該Q方向に延びて形成された誘電体ブロック部72を備えている。なお、誘電体ブロック部72の底面の一部が凹面73、74とされるとともに、該凹面73、74が鏡面とされて光収束機能と反射機能とを備えた凹面ミラーとして機能する反射光学系75を構成している。

【0054】誘電体ブロック部72の一面72aから光ビーム30がQ1列のウェル71の界面に向けて入射され、該界面で反射した光ビーム30が誘電体ブロック部72の一部に形成された凹面73で反射され、Q2列のウェル71の界面に対して該界面で収束するように入射され、さらに該界面で反射された光ビーム30が凹面74で反射されてQ3列のウェル71の界面に対して該界面で収束するように入射される。該Q3列のウェル71の界面で反射された光ビーム30は誘電体ブロック部72の他面72bから出射され、光検出手

12

段で受光される。

【0055】図7は、さらに別の測定ユニットおよび反射光学系の断面図を示す。図7に示す測定ユニットの集合体である測定用プレート80は、図6で示した測定用プレート50と同様に矢印P方向およびQ方向に2次的に配列された複数のウェル81を備え、矢印Q方向に並んだウェルの下部に該Q方向に延びて形成された誘電体ブロック部82を備えている。ただし、誘電体ブロック部82の底面は平面でありそのの一部に鏡面84が設けられている。また、本測定用プレート80は、ウェル81の底面81aが凹面とされており、すなわち誘電体ブロックと金属膜12との界面が凹面であり、該凹面81aと前記鏡面82とにより光収束機能と反射機能とを備えた凹面とミラーからなる反射光学系が構成されている。なお、この凹面状の界面へ光ビームを入射させる際には、界面上で点状に集光させるのではなく、デフォーカス状態で入射させ、該界面での反射光が鏡面82で収束するように構成する。

【0056】誘電体ブロック部82の一面82aから光ビーム30がQ1列のウェル81の界面に向けて入射され、該界面で反射した光ビーム30が誘電体ブロック部82の底面の一部に形成された鏡面84で反射されQ2列のウェル81の界面に入射され、さらに該界面で反射された光ビーム30がさらに鏡面84で反射されてQ3列のウェル81の界面に入射される。該Q3列のウェル81の界面で反射された光ビーム30は誘電体ブロック部82の他面82bから出射され、光検出手段で受光される。

【0057】図6および図7の測定ユニットおよび反射光学系の場合、光ビーム30は、各界面に対して略同一の角度範囲で入射するため、試料液滴下前には、図4

(a)に示したように1本の暗線として観察され、その後、時間の経過と共に、図4(b)のように暗線が分離する等のプロファイルの変化を観察することにより、ヒットの有無を得ることができる。

【0058】但し、上記の場合には、直列に並べた複数のウェルのうちいずれのウェルがヒットしたかを特定することはできず、その後、各ウェル毎の測定を行うことによりヒットしたウェルを特定する必要がある。

【0059】図8は、さらに別の測定ユニットおよび反射光学系の断面図を示す。図8において測定ユニットの集合体である測定用プレート50は、図1で示した測定用プレート50と同一のものである。一方、反射光学系95は、測定ユニット支持台60に凹面鏡が備えられている点では図3と同様であるが、2つの凹面鏡91、92の傾きが互いに異なるように配置されている。

【0060】光ビーム30がQ1列のウェル51の界面に最大入射角 $\theta_1$ で入射され、該界面で反射した光ビーム30が凹面鏡91により反射されQ2列のウェル51の界面に該界面で収束するように入射される。このとき、光ビーム30の最大入射角は $\theta_2$ である。さらに、Q2列のウェル51の界面で反射された光ビーム30は、凹面鏡92で反射されQ3列

(8)

特開2003-287493

13

のウェル51の界面で収束するように入射される。このときの光ビーム30の最大入射角は $\theta_3$  ( $\theta_1 < \theta_2 < \theta_3$ )である。該Q列のウェル51の界面で反射された光ビーム30が光検出手段で受光される。このように、凹面鏡91、92により各界面に対して少しずつ異なる角度範囲で光ビーム30が入射されるようにしておくと、試料滴下前の光ビームプロファイルには図9(a)に示すように、光検出手段上の異なる位置x1、x2、x3に暗線が観測される。試料滴下後、時間経過と共に暗線位置はずれるが、3本の暗線の間隔の変化によりヒットの有無を得ることができる。例えば、試料滴下前の光ビームプロファイルが図9(a)で示されるようなものであり、試料滴下して所定時間経過後、図9(b)に示すように、3本の暗線の間隔が変化したとする。この場合、x2からx2'へ移動した暗線の位置変化は他の2本の暗線の変化より大きく、このx2(x2')で表された暗線が発生させたウェルの検体がヒットした可能性が大きいことを意味する。このようにウェル毎で発生する暗線の光検出器上における位置がずれるようにすれば、いずれのウェルがヒットしたかも同時に特定することができる。但し、より多数のウェルを直列に配置して測定を行う場合には、互いのウェル毎で暗線位置がずれるように設定しておいてもウェルと暗線位置を特定することが困難な場合もあり、その場合には、光検出手段により検出された光ビームプロファイルの変化により、ヒットしたものとあると判断された場合に、個々のウェルの測定を行うことができる測定装置により測定すればよい。

【0061】図10は、さらに別の測定ユニットおよび反射光学系の断面図を示す。図10に示す測定ユニット100は、個々にチップ状に形成されたものである。測定ユニットとしての測定チップ100は、例えば透明樹脂等により形成された倒立截頭四角錐形状を有し、この測定チップ100上部に、断面円形の検体保持穴113aが形成されて試料保持部113が構成されており、検体保持穴113aの底面に金属膜12が被着されている。また、さらに金属膜12上にはセンシング物質14が固着されている。この測定チップ100の試料保持部113の下部が誘電体ブロック部111であり、その4つの側面のうちの対面する2面がそれぞれ光入射端面111a、光射出端面111bとされている。測定チップ100は測定ユニット支持台120のP方向およびQ方向に2次元状の配置で複数設けられたチップ保持孔121に1個ずつ嵌合固定されている。なお、光ビーム30に対して直列的に(矢印Q方向に)配置される複数の測定チップ(ここでは3つの測定チップ)の検体保持穴113aの底面に形成されている金属膜12の厚み1〜13は互いに異なるものとされている。本実施形態の反射光学系130は、測定チップ100の下方に配置された鏡面131と該鏡面131上に配置された2つの凸レンズ132、133とから構成されている。

【0062】Q1列の測定チップ100の界面に対して光ビ

14

ーム30が入射され、該界面で反射した光ビーム30が、鏡面131で反射され、凸レンズ132の作用によりQ2列の測定チップ100の界面で収束するように入射され、さらに該界面で反射された光ビーム30が、再び鏡面131で反射され、凸レンズ133の作用によりQ3列の測定チップ100の界面で収束するように入射される。該Q3列の測定チップ100の界面で反射された光ビーム30が光検出手段で受光される。光ビームの界面への入射角度と金属膜12上の物質の屈折率との関係は金属膜12の厚み毎で異なるため、光検出手段で受光された光ビームのプロファイルには3本の暗線がずれて観測される。試料滴下前、および試料滴下後の所定時間、光ビームのプロファイルをモニタし、3本の暗線の間隔の変化等によりヒットの有無を得ることができる。例えば、3本の暗線の間隔等に顕著な変化があれば、いずれかの測定チップの検体がヒットしたと判断される。

【0063】なお、各界面で生じる暗線の光検出手段上での位置をずらせる方法としては、前述のように反射光学手段の傾きを変える、金属膜の厚みをそれぞれ異なるものとするほか、各試料液のバッファの屈折率を異なるものとする。測定ユニットをチップ状のものとして構成し、互いに異なる屈折率の誘電体ブロックを備えたものとする等種々の方法が考えられる。

【0064】なお、上記実施形態においては、1次元に並べられた測定ユニット(ウェル)を光ビームに対して直列としたが、2次元、3次元的に配置された測定ユニットを光ビームに対して直列とするように反射光学系を構成してもよい。

【0065】図11は、本発明の測定装置の第2の実施形態の表面プラズモンセンサーの概略を示す平面図である。本実施形態の表面プラズモンセンサーにおいても図1と同様の測定用プレート50を備えている。但し、測定用プレート50に対して、入射光学系20'および光検出手段27aをそれぞれ1組のみ備え、図示しない反射光学系により、光ビーム30が測定用プレート50の全てのウェル51の界面に順次入射するように構成されている。光ビーム30は図中点線矢印で示す順に全てのウェル51を経て光検出手段27aで検出される。このように、反射光学系により、2次元的に配列された複数の測定ユニットを光ビーム30に対して直列なものとし、1つの光検出手段により、さらに多くの測定ユニットの界面での反射光の状態を含む光ビームを検出することができ、光ビームに対して直列的に並べられた複数の測定ユニット中におけるヒットの有無を得ることができる。

【0066】なお、上述の各実施形態の測定装置は、光源からの光ビームを界面に対して種々の角度で入射させ、該界面からの反射光を測定し暗線となる入射角度の変化から全反射減衰の状態を測定して検検体とセンシング物質との結合状態を得るものであるが、光ビームの入射角度を界面で全反射条件を満たす所定の角度とし、種

(9)

特開 2003-287493

15

々の波長を有する光ビームを入射させる、もしくは入射させる光ビームの波長を変化させ、界面からの反射光を測定し、各波長毎の全反射減衰の状態により被検体とセンシング物質との結合状態を得るようにしてもよい。

【0067】また、本発明の測定装置の第3の実施形態の表面プラズモンセンサーである光の位相を利用した測定装置を図12に示し、以下に説明する。図12は光の位相を利用した測定装置の概略断面図である。

【0068】本実施の形態による表面プラズモンセンサーにおいては、測定ユニットの集合体である測定用プレート140として、図7に示した測定用プレート80と同様であるが、各ウェル141の底面141aが平面であるものを備えている。また、上記実施形態に用いたものと同様に、P方向に並べられた5つのウェル141に対して並行して光ビームを入射させるよう構成されている。また、測定用プレート140の誘電体ブロック部142の底面の一部に鏡面145が形成された反射光学系を構成している。なお、本実施形態においては反射光学系に収束機能を備えていない。

【0069】図12に側面形状を示すように、本実施の形態の表面プラズモンセンサーは、測定用プレート140の誘電体ブロック142の光ビーム入射面142a側および出射面142b側にそれぞれ、複数の光源334a～eとCCD360a～eとが配設されており、これら光源334a～eとCCD360a～eとの間には、コリメータレンズ350a～e、干渉光学系、集光レンズ355a～eおよびアパーチャ356a～eが配設されている。

【0070】上記干渉光学系は、偏光フィルタ351a～e、ハーフミラー352a～e、ハーフミラー353a～eおよびミラー354a～eにより構成されている。

【0071】さらに、CCD360a～eは信号処理部361に接続されており、信号処理部361は表示部362に接続されている。

【0072】以下、本実施の形態の表面プラズモンセンサーにおける試料の測定について説明する。なおここでは、測定用プレート140のウェル141のうち、光源34aおよびCCD360aに整合する状態とされたP方向1行のウェル141を例にとって説明を行なうが、その他のウェルにおいても測定は同様になされる。

【0073】光源334aが駆動されて光ビーム330が発散光の状態で出射される。この光ビーム330はコリメータレンズ350aにより平行光化されて偏光フィルタ351aに入射する。偏光フィルタ351aを透過して界面141aに対してp偏光で入射するようにされた光ビーム330は、ハーフミラー352aにより一部がレファレンス光ビーム330Rとして分割され、ハーフミラー352aを透過した残りの光ビーム330SはQ列のウェル141の界面141aに入射する。該界面141aで全反射した光ビーム330Sは、鏡面145で反射されてQ列のウェル141の界面141aに入射され、さらに該界面で反射された光ビーム330Sが、再び

16

鏡面145で反射されてQ列のウェル141の界面に入射される。該Q列のウェルの界面で反射された光ビーム330S、およびミラー354aで反射したレファレンス光ビーム330Rはハーフミラー353aに入射して合成される。合成された光ビーム330'は集光レンズ355aにより集光され、アパーチャ356aを通過してCCD360aによって検出される。このとき、CCD360aで検出される光ビーム330'は、光ビーム330Sとレファレンス光ビーム330Rとの干渉の状態に応じて干渉縞を発生させる。

【0074】特定物質とセンシング物質との結合状態に応じてセンシング物質14の屈折率が変化すると、界面で全反射した光ビームとレファレンス光ビームとの干渉状態が変化するため、干渉縞の変化に応じて結合を有無を検出することができる。本実施形態においては、複数のウェル141を光ビーム330に対して直列的に配している。直列に配された複数のウェル141のいずれかのウェル中の検体がセンシング物質と結合すれば、干渉縞の変化が検出される。

【0075】信号処理部361は、以上の原理に基づいて上記反応の有無を検出し、その結果が表示部362に表示される。本測定により、直列に配された複数のウェル141のいずれかのウェルの検体にヒットが認められた場合には、個々のウェル毎の測定が可能な測定装置においてヒットしたウェルの特定を行う。

【0076】以上の測定操作はP方向の他の4行のウェル141に対しても並行して同様になされる。

【0077】なお信号処理部361は、5個のCCD360a～eに対してそれぞれ専用のものを設けてもよいし、あるいは5個のCCD360a～eに対して共用のものを1個だけ設けて、それらのCCD360a～eが出力した光量検出信号Sを順次処理するようにしても構わない。

【0078】なお、この表面プラズモンセンサーの構成を上記と同様に漏洩モードセンサに利用することができることは言うまでもない。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施形態による表面プラズモンセンサーの平面図

【図2】図1の表面プラズモンセンサーの側断面図

【図3】図2の表面プラズモンセンサーの測定用プレートおよび反射光学系の拡大図

【図4】暗線位置の変化を示す図

【図5】本発明の実施形態による漏洩モードセンサの一部側断面図

【図6】本発明の測定装置における別の測定ユニットおよび反射光学系を示す側断面図

【図7】本発明の測定装置における別の測定ユニットおよび反射光学系を示す側断面図

【図8】本発明の測定装置における別の測定ユニットおよび反射光学系を示す側断面図

【図9】図8に示した測定ユニットおよび反射光学系を

(10)

特開2003-287493

17

18

備えた測定装置を利用した場合の暗線位置の変化を示す図

【図10】本発明の測定装置における別の測定ユニットおよび反射光学系を示す側断面図

【図11】本発明の第2の実施形態による表面プラズモンセンサーの側面図

【図12】本発明の第3の実施形態による表面プラズモンセンサーの側面図

【符号の説明】

10 光源

12 金属膜

\* 14 センシング物質

20 入射光学系

27a~e 光検出手段

30 光ビーム

31, 32 凹面鏡

35 反射光学系

50 測定用プレート

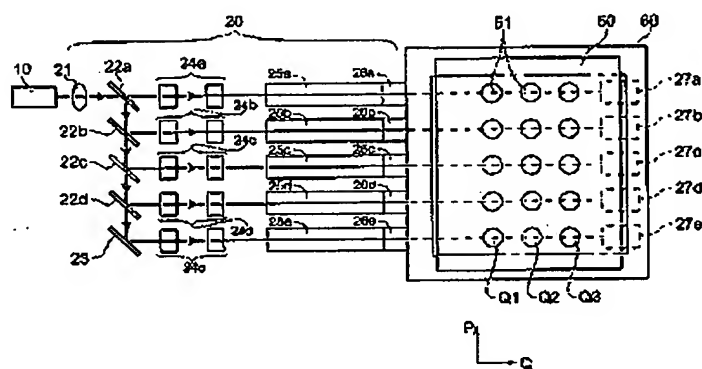
51 ウェル

52 誘導体ブロック部

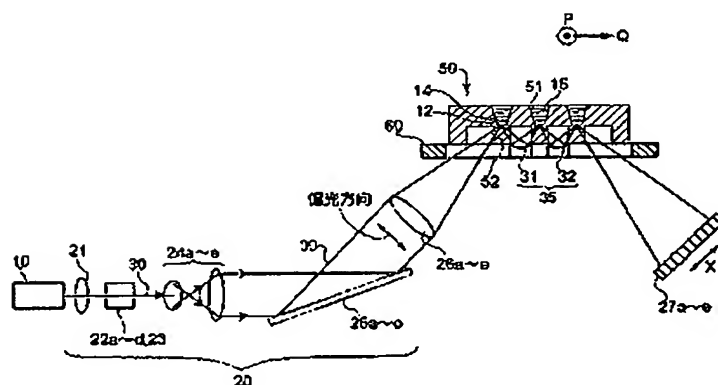
10 60 測定ユニット支持台

\*

【図1】



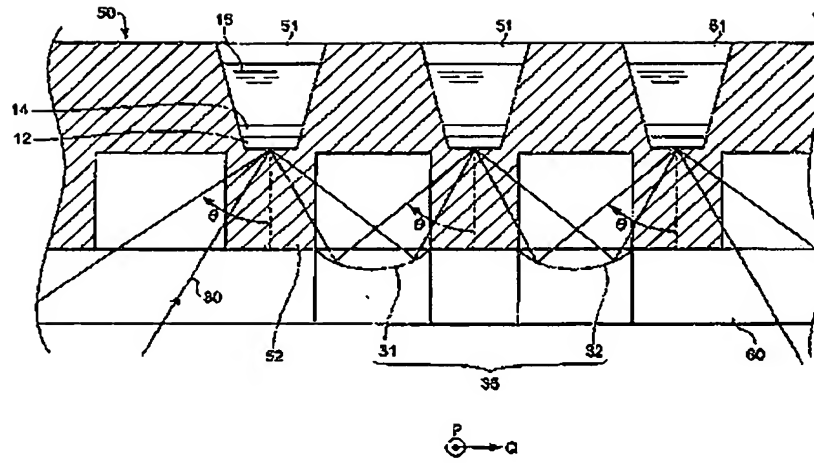
【図2】



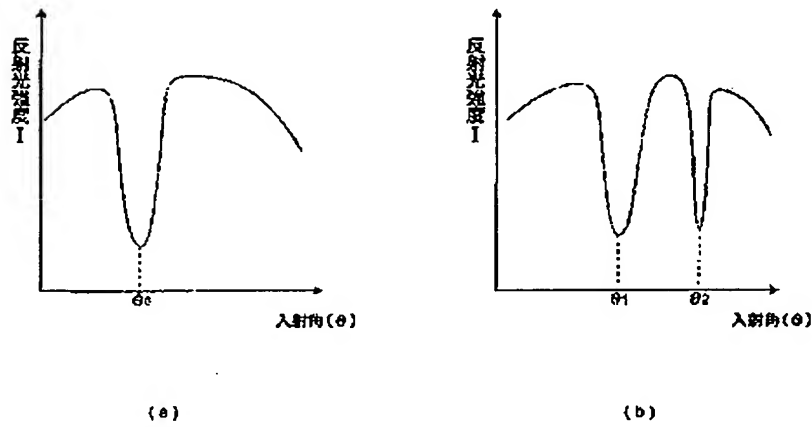
(11)

特開2003-287493

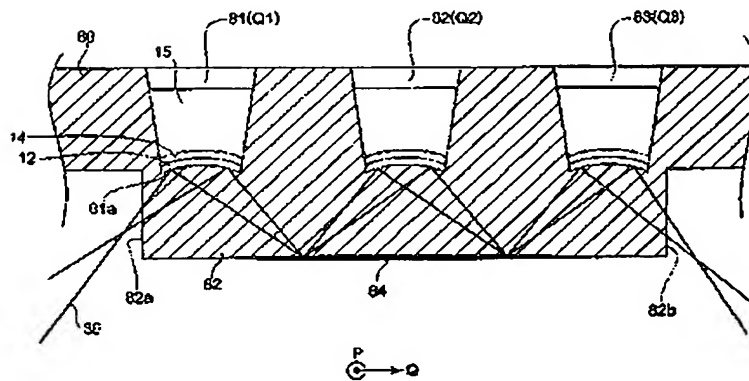
【図3】



【図4】



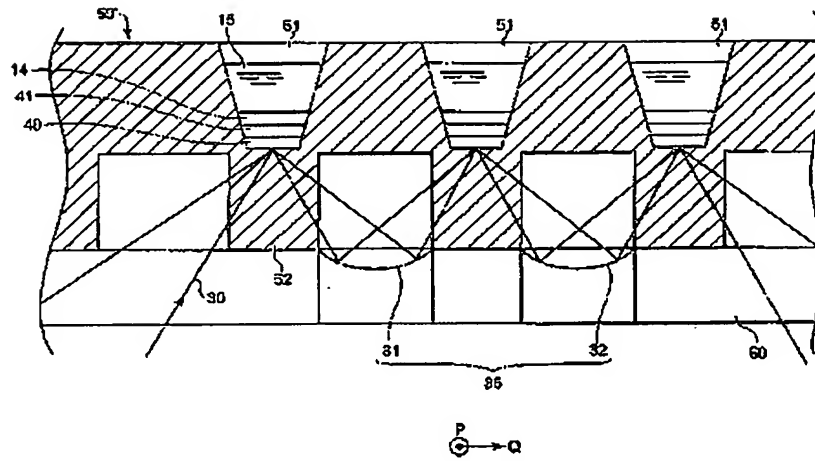
【図7】



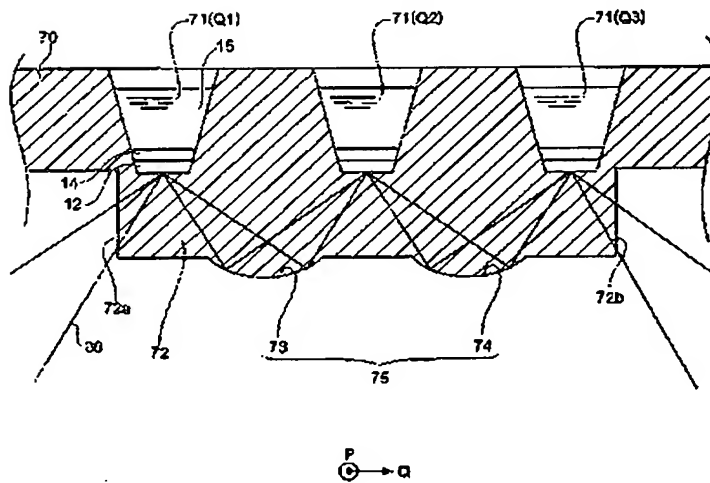
(12)

特開2003-287493

【図5】



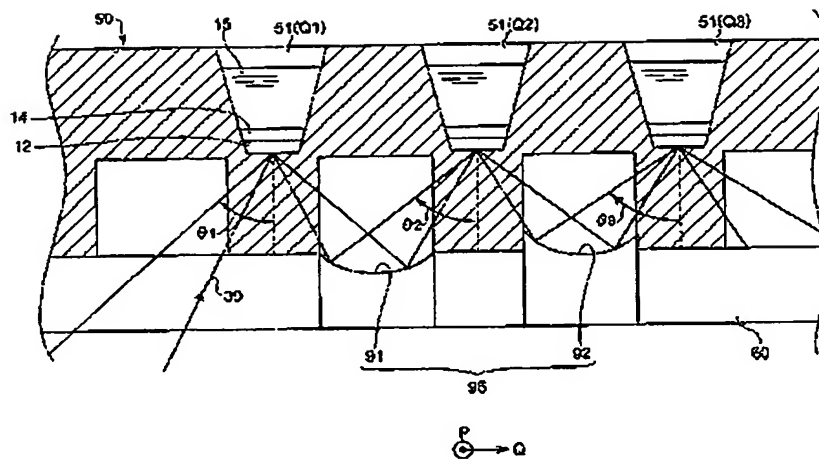
【図6】



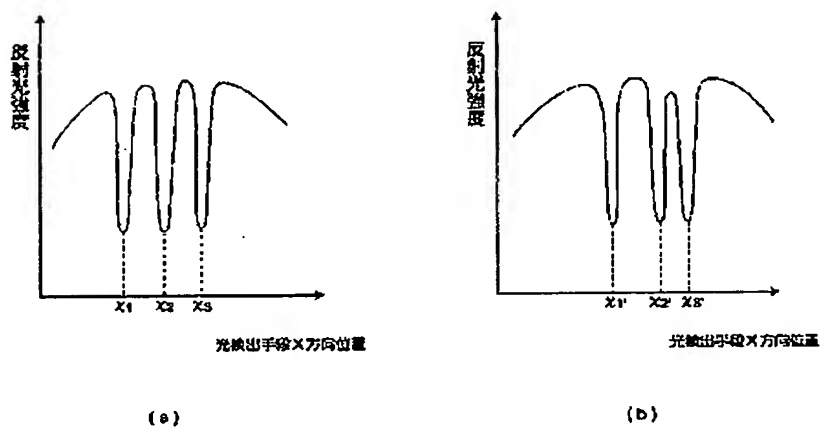
(13)

特開2003-287493

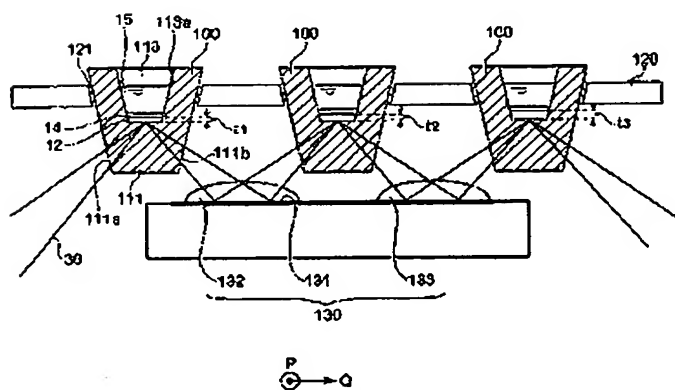
【図8】



【図9】



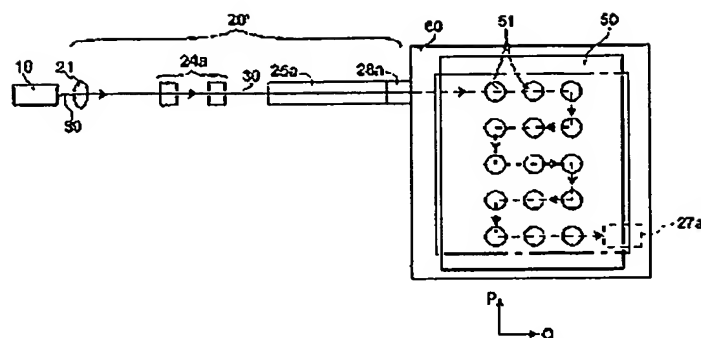
【図10】



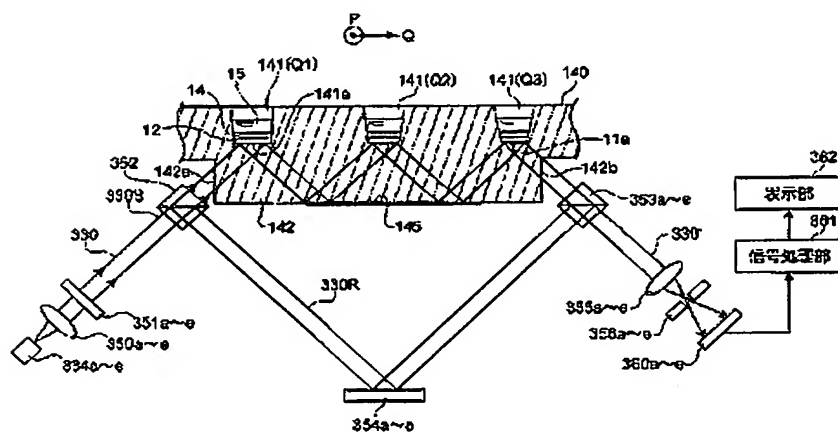
(14)

特開2003-287493

【図11】



【図12】



フロントページの続き

F ターム(参考) 2G057 AA02 AB04 AB07 AC01 BA01  
BB01 BB06  
2G059 AA01 BB04 BB12 CC16 DD13  
DD16 EE02 EE05 EE09 GG01  
GG04 JJ11 JJ13 JJ14 JJ19  
JJ22 KK04 MM01 MM03 MM09  
MM11 PP04